

网络出版时间:2017-07-07 15:03

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2017.08.004

网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.s.20170707.1503.008.html

APEC 感染雏鸡小肠炎症相关基因的 RNA-Seq 分析

王 琦, 祁克宗, 涂 健, 薛 挺, 王惠珂, 徐柳柳

(安徽农业大学 动物科技学院, 安徽 合肥 230036)

【摘 要】【目的】研究禽致病性大肠杆菌(APEC)感染雏鸡小肠炎症相关基因表达的变化。【方法】对 14 日龄雏鸡腿部肌肉注射 0.5 mL/羽 1×10^6 CFU/mL 的 APEC 菌液, 观察雏鸡的发病情况, 并取病变严重雏鸡空肠为测序样品, 同时以注射等量生理盐水为对照, 采用 RNA 高通量测序(RNA-Seq)技术, 筛选分析感染和未感染 APEC 雏鸡小肠炎症相关基因表达的变化。【结果】以差异倍数在 2 倍及以上为标准, 从试验组与对照组共筛选出差异表达基因 131 个。GO 分类结果显示, 有 87 个差异基因得到 491 个 GO 功能注释, 这些基因主要富集在炎症反应、肝素整合、白细胞介素-6 的生物合成等过程。基于 KEGG 分析, 仅有 29 个差异基因得到注释, 涉及 41 个信号通路, 主要参与的信号通路有 PPAR、花生四烯酸代谢、MAPK 等。【结论】APEC 感染雏鸡后会引起机体炎症相关基因表达的变化, 从中筛选出 10 个可能在炎症反应中具有重要影响的炎症相关基因。

【关键词】 禽致病性大肠杆菌; 雏鸡小肠; RNA 高通量测序; 炎症相关基因

【中图分类号】 S852.61⁺2; S854.4

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2017)08-0023-06

RNA-Seq analysis of genes related to small intestinal inflammation of APEC infected chicks

WANG Qi, QI Kezong, TU Jian, XUE Ting, WANG Huike, XU Liuliu

(College of Animal Science and Technology, Anhui Agriculture University, Hefei, Anhui 230036, China)

Abstract: 【Objective】The aim of this study was to research the inflammation related genes of small intestines of chicks infected by avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). 【Method】The chicks at the age of 14 days were injected with 0.5 mL of APEC bacteria solution containing 1×10^6 CFU/mL through leg. The incidence of chicks was observed and jejunum was taken for sequence. The same amount of saline was used as control. The expression of inflammation related genes in small intestines of chicks affected by APEC was screened and analyzed by RNA-Seq technology. 【Result】A total of 131 genes with at least 2-fold differences were identified in small intestines of chicks in experimental and control groups. GO analysis revealed that there were 491 GO functional annotations from 87 different genes, and these differentially expressed genes were related to inflammatory response, heparin binding, and regulation of interleukin-6 biosynthetic process. KEGG analysis revealed that there were only 29 different genes with comments, involving 41 signaling pathways relating to PPAR, arachidonic acid metabolism, and MAPK signaling pathway. 【Conclusion】Gene expression patterns changed after APEC infection and 10 genes potentially relating to inflammation response were screened.

Key words: APEC; small intestines of chicks; RNA-Seq; inflammation related genes

【收稿日期】 2016-07-04

【基金项目】 国家自然科学基金项目(31372402); 国家自然科学基金青年项目(31502038)

【作者简介】 王 琦(1991—), 女, 河北张家口人, 在读硕士, 主要从事兽医疫病病理研究。E-mail: 2532606102@qq.com

【通信作者】 祁克宗(1962—), 男, 安徽合肥人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事兽医疫病病理研究。E-mail: qkz@ahau.edu.cn

RNA 高通量测序(RNA-Seq)技术是基于 Illumina 的高通量测序平台,其将 RNA 反转录为 cDNA 进行测序,再通过直接对比该基因组区域的 reads 数来衡量其转录水平。RNA-Seq 技术现已广泛应用于差异表达基因的筛选,并且可以用于健康组织与疾病组织之间基因表达差异的研究。张清瑞^[1]成功利用 RNA-Seq 技术分析了 DHAV-1 感染雏鸭组织与健康雏鸭组织的差异表达基因。Castillo 等^[2]通过 RNA-Seq 技术研究了细菌感染线虫和未被细菌感染线虫寄生的黑腹果蝇的转录组基因,发现细菌感染后参与应激反应、新陈代谢等相关基因的表达具有差异。

机体的防御机制包括第一道防御屏障和第二道防御反应;第一道防御屏障是指皮肤、黏膜等的屏障功能;第二道防御反应包括炎症反应和特异性免疫应答。其中炎症是具有血管系统的活体组织对各种致炎因子引起损伤所发生的以防御为主的全身性病理过程。炎症发生时,伴随着局部疼痛,而疼痛与多种因素有关,其中炎症局部分解代谢增强、钾离子积聚刺激神经末梢会引起疼痛,而炎性介质的刺激也会引起疼痛。炎症中由细胞释放的炎性介质包括花生四烯酸代谢产物、细胞因子等,其中细胞因子包括白细胞介素、生长因子、趋化因子等。禽致病性大肠杆菌(Avian pathogenic *E. Coli*, APEC)是引起禽致病性大肠杆菌病的病原,其可通过损伤肠道黏膜进入机体循环系统,从而对宿主造成严重损害。宿主小肠上皮细胞在接触病原微生物时,可通过产生趋化因子、细胞因子招募炎性细胞,以调节微环境中炎症的格局,因此小肠上皮细胞在损伤-修复的平衡中扮演着重要角色。损伤-修复平衡会引起宿主相关基因表达的变化,而这些基因表达的变化对研究宿主抗感染作用机制具有极其重要的意义。本试验通过对 APEC 感染雏鸡小肠组织进行转录组测序,以期筛选差异表达基因,进而分析部分炎症相关差异表达基因,为探讨雏鸡对 APEC 感染的防御反应机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验动物与菌株

1 日龄健康雏鸡 20 羽,购自安徽省安禽养殖有限公司,饲喂雏鸡全价饲料至 14 日龄进行后续试验;禽致病性大肠杆菌 AE17 菌株,由本实验室分离

保存。

1.2 主要试剂

总 RNA 提取 Trizol Regent、反转录试剂盒 PrimeScript™ RT reagent Kit with cDNA Eraser、荧光定量 PCR SYBR Premix Ex Taq™ II,均购自大连宝生物工程有限公司。

1.3 样品处理与测序

将 20 羽 14 日龄雏鸡随机分为试验组和对照组 2 组,其中试验组 10 羽雏鸡腿部肌肉注射 1×10^6 CFU/mL 的菌液 0.5 mL/羽,对照组 10 羽腿部肌肉注射生理盐水 0.5 mL/羽,注射后及时观察发病情况,选择精神沉郁、羽毛松乱、厌食、不爱动的雏鸡,颈部放血处死并无菌采集雏鸡小肠,以病理组织学观察病变情况较为严重的空肠作为测序样品,采集样品并经 PBS 清洗后取 50 mg 置于液氮中,于一 80 ℃ 保存,然后送交上海伯豪公司用 Illumina HiSeq 2500 对样品进行测序。具体程序包括提取总 RNA 并纯化 mRNA,然后通过 PCR 仪反转录成 cDNA。将反转录后的 cDNA 通过 Covaris S2 系统超声打断成小片段并纯化,富集纯化的 cDNA 模板后用 Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer 对文库进行质检,最后上机测序,测序长度 50 bp,测序数据量 1.7 G。转录组测序工作由本实验室其他成员完成。

1.4 数据处理与分析

1.4.1 转录组测序数据处理 用 FastQC 分析软件对测序得到的原始序列数据(Raw reads)进行测序质量评估,并去除带接头、含有 poly-N 以及低质量 reads 形成纯净序列(Clean reads);利用 Tophat 软件将得到的纯净序列与鸡的参考基因组进行测序数据比对。

1.4.2 差异基因筛选及 GO 和 KEGG 富集 对 Tophat 的 spliced mapping 结果进行基因定量,以未感染大肠杆菌 AE17 的雏鸡小肠为对照,对得到的基因表达量(FPKM 值)进行样本间差异基因分析,以差异倍数绝对值 ≥ 2 且 $FDR \leq 0.05$ (FDR 是对 P -value 的校正值)为标准筛选差异表达基因。然后将差异基因向 Gene Ontology(GO)和 KEGG 数据库的各个条目进行映射,筛选出在差异基因中显著富集的 GO 和 KEGG 条目。

FPKM 的计算公式表示如下:

$$FPKM = \frac{\text{map 至整个基因外显子上的片段数}}{\text{基因外显子碱基全长} \times \text{样本所有 map 至基因组测序的 reads 碱基数}} \times 10^9。$$

2 结果与分析

2.1 APEC 感染雏鸡小肠基因表达分布

由图 1 可以看出,APEC 感染雏鸡小肠基因表达分布图有 2 个较为明显的峰,说明本次测序数据量足够,可为后续数据分析提供较好的原始数据。

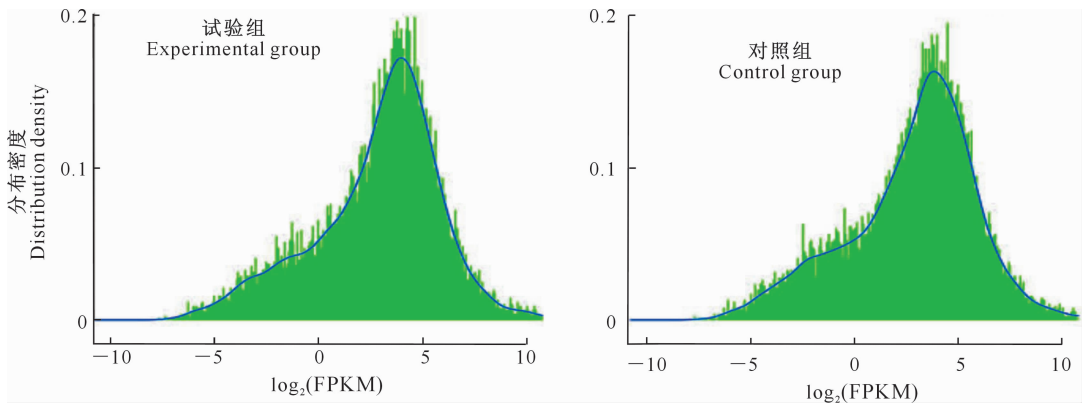


图 1 试验组与对照组雏鸡小肠基因表达的分布

Fig. 1 Chicks small intestinal genes expression of experimental and control groups

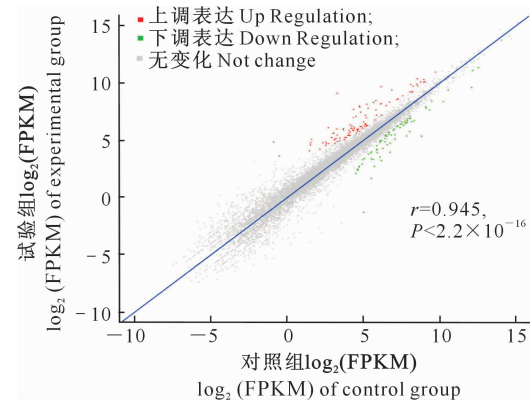
表 1 试验组与对照组雏鸡小肠基因组的比对

Table 1 Mapping of chicks small intestinal genome between experimental and control groups

样品名称 Samples	所有片段 All reads	比对上的片段 Mapped reads	比对上片段的比例/% Percent of mapped reads
对照组 Control group	33 286 598	30 140 753	90.55
试验组 Experimental group	33 429 372	29 956 754	89.61

2.3 APEC 感染雏鸡小肠差异基因的筛选

以 $FDR \leq 0.05$ 且差异倍数(Fold change)绝对值 ≥ 2 为条件进行筛选,图 2 显示,从 15 241 个基因中共获得 131 个差异表达基因,其中上调的差异基因有 74 个,下调的差异基因有 57 个。



红色表示上调差异基因,绿色表示下调差异基因,灰色表示无差异基因

Red shows increase of gene expression, green shows decrease of gene expression,gray shows no difference of gene expression

图 2 试验组与对照组雏鸡小肠差异基因散点图

Fig. 2 Differences in chicks small intestinal genes of experimental and control groups

2.2 APEC 感染雏鸡小肠基因组的比对

应用 Tophat 的 spliced mapping 算法对预处理后的 reads 进行 Genome mapping,将所得到的 reads 与鸡的参考基因进行比对,mapping 到基因组上的结果(表 1)分别为 90.55%和 89.61%。

炎症反应是机体的重要防御机制,炎症反应可能是雏鸡小肠受大肠杆菌损伤的关键因素。因此,为了进一步阐述雏鸡小肠对 APEC 感染的防御反应机制,基于 NCBI 数据库及已发表的文献报道找到一些炎症相关基因见表 2。由表 2 可以看出,与对照组雏鸡相比,试验组雏鸡小肠基因中 *CEBPB*、*EGR1*、*FGF19*、*PTGDS*、*ASS1* 和 *NFKBIZ* 基因的表达上调,而 *MME*、*ABCC2*、*LPL* 及 *APOA5* 基因的表达下调。

2.4 APEC 感染雏鸡小肠差异表达基因的 GO 功能分类

对筛选出的差异表达基因进行 GO(GO ontology)功能分类。GO 分析结果表明,仅有 87 个基因得到了注释,有 13 269 条基因得到归类注释,得到 491 个 GO 功能注释,涉及分子功能(Molecular function,MF)、细胞组分(Cellular component,CC)和生物学过程(Biological process,BP)3 大功能类。其中,在生物学过程方面,共发现 291 个(59.27%)显著性 GO,主要涉及痛觉的感知、趋化因子的活力、内质网应激反应、肝素结合、巨噬细胞到泡沫细胞的正调控、免疫应答、蛋白质苏素化的调节、白细

胞介素-6(IL-6)生物合成过程的调控等。

表 2 试验组与对照组雏鸡小肠的部分炎症相关差异表达基因

基因名称 Gene symbol	基因表达量 Expression level		差异倍数 Fold change	P 值 P value
	试验组 Experimental group	对照组 Control group		
<i>CEBPB</i>	43.92	9.92	4.43	3.62×10^{-7}
<i>EGR1</i>	35.74	9.43	3.79	2.38×10^{-5}
<i>FGF19</i>	42.91	17.75	2.42	4.36×10^{-4}
<i>PTGDS</i>	55.30	24.84	2.23	1.24×10^{-4}
<i>ASS1</i>	67.44	31.25	2.16	4.96×10^{-5}
<i>NFKBIZ</i>	77.62	38.73	2.00	3.82×10^{-5}
<i>MME</i>	343.72	724.53	0.47	3.12×10^{-24}
<i>ABCC2</i>	28.15	69.25	0.41	2.62×10^{-4}
<i>LPL</i>	5.57	24.68	0.23	1.79×10^{-3}
<i>APOA5</i>	5.53	25.37	0.22	1.12×10^{-3}

2.5 APEC 感染雏鸡小肠差异表达基因的信号通路

对差异表达基因通过 KEGG 数据库进行信号通路分析,可以更深入地了解该基因的生物学功能,以及与其他基因间的相互作用,以进一步研究基因在生物学上的复杂行为。KEGG 信号通路分析结果表明,仅有 29 个差异基因得到了注释,共 3 847

条基因涉及 41 个信号通路,其中差异基因上调的有 16 个信号通路,下调的有 18 个信号通路,既有上调又有下调的信号通路有 7 个。每个信号通路中均只包含 1 个或几个差异表达基因,且每个差异表达基因通常不局限于一个通路。部分炎症相关基因的信号通路见表 3。

表 3 试验组与对照组雏鸡小肠炎症相关差异表达基因的显著性富集通路

序号 NO.	通路 ID Pathway ID	通路名称 Pathway	炎症相关基因 Inflammation related genes	P 值 P value
1	gga03320	PPAR 信号通路 PPAR signaling pathway	<i>LPL</i> 、 <i>APOA5</i>	1.86×10^{-4}
2	gga04810	肌动蛋白细胞骨架的调节 Regulation of actin cytoskeleton	<i>FGF19</i>	7.38×10^{-1}
3	gga04010	MAPK 信号通路 MAPK signaling pathway	<i>FGF19</i>	8.39×10^{-1}
4	gga00590	花生四烯酸代谢 Arachidonic acid metabolism	<i>PTGDS</i>	8.82×10^{-2}
5	gga01100	代谢途径 Metabolic pathways	<i>PTGDS</i> 、 <i>ASS1</i>	4.88×10^{-1}
6	gga00330	精氨酸和脯氨酸代谢 Arginine and proline metabolism	<i>ASS1</i>	1.27×10^{-2}
7	gga01230	氨基酸的生物合成 Biosynthesis of amino acids	<i>ASS1</i>	2.05×10^{-2}
8	gga00250	丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢 Alanine,aspartate and glutamate metabolism	<i>ASS1</i>	5.40×10^{-2}
9	gga04614	肾素-血管紧张素系统 Renin-angiotensin system	<i>MME</i>	1.30×10^{-2}
10	gga02010	ABC 转运蛋白 ABC transporters	<i>ABCC2</i>	5.71×10^{-2}
11	gga00561	甘油脂类的新陈代谢 Glycerolipid metabolism	<i>LPL</i>	1.12×10^{-2}

3 讨 论

APEC 可以通过损伤肠道黏膜进入机体循环系统,进而对宿主造成严重损害,给养禽业造成了重大经济损失。本试验通过对 APEC 感染雏鸡小肠组

织进行转录组测序,并结合 NCBI 数据库及已发表的文献报道,筛选出部分炎症相关基因。而分析这些炎症相关差异基因的表达对研究疾病发生发展及宿主抗病机制具有重要作用。本试验中,根据基因功能及其所在的信号通路筛选了 10 个炎症相关基

因。

精氨酸琥珀酸合酶(ASS1)是合成精氨酸的限速酶。ASS1 基因的表达受到一些刺激物,如炎症因子、细胞因子、脂多糖(LPS)等调节。Szlosarek 等^[3]研究卵巢癌时发现,肿瘤坏死因子- α (TNF- α)与 ASS1 表达共定位,说明 TNF- α 对 ASS1 的调节为炎症发生和代谢提供了重要的分子途径。在人类和啮齿类动物中,小肠是精氨酸合成的主要部位。在小肠细胞中加入生理浓度的精氨酸可以促进蛋白合成,并促进细胞增殖和抑制一些炎症因子如 LPS 诱导的细胞凋亡。本试验中,ASS1 上调说明可能由于 APEC 的感染,导致小肠中的炎症因子等刺激物促进了 ASS1 的表达且抑制了这些炎症因子的凋亡。

成纤维细胞生长因子 19(FGF19)是一种代谢调节因子。Uchiyama 等^[4]研究表明,FGF19 可以保护直肠上皮细胞免受过氧化氢的侵袭,可能为治疗炎性肠病提供方法。本研究表明,FGF19 基因表达上调,且富集于 MAPK 信号通路和肌动蛋白细胞骨架调节通路,MAPK 信号转导通路在炎症与细胞凋亡等应激反应中发挥着重要作用,而肌动蛋白细胞骨架可促进成肌纤维细胞的分化及组织的纤维化过程,在组织损伤修复中具有重要作用^[5]。Chennamsetty 等^[6]研究证明,阻断 FGF19-FGFR4 信号通路减弱了其对 APOA 表达的抑制作用,证明 FGF19-FGFR4 途径可抑制 APOA 的表达。本试验发现,FGF19 表达上调的同时,APOA5 表达却有所下调,这与 Chennamsetty 等^[6]的研究结果一致,推测本试验中有可能是 FGF19-FGFR4 途径抑制了 APOA5 的表达,但尚需要进一步深入研究来证实。APOA5 是一个载脂蛋白基因,本试验中该基因富集于 PPAR 信号通路并与肝素结合。PPAR 信号通路在炎症反应、细胞凋亡、平滑肌细胞迁移和增殖及肿瘤发生中起到重要的调节作用。肝素有抗纤维化作用,恰好与 FGF19 中肌动蛋白细胞骨架的促纤维化作用相反。肝素可以部分限制炎症细胞的活化及组织破坏修复,发挥减轻炎症作用,也可以通过与选择素的竞争结合抑制白细胞沿血管内皮滚动,抑制炎症的初始过程,并与多种细胞因子紧密结合,进一步抑制内皮细胞与白细胞的强黏附过程。APOA5 基因表达下调说明此时机体可能正处于炎症早期,且是炎症细胞分化阶段并与内皮细胞强黏附时期。有研究表明,被分离的重组 APOA5 有调整脂蛋白脂肪酶(LPL)活性的功能,但对 LPL 活性

的影响较小^[7]。本试验中,LPL 基因同 APOA5 一样,均为表达下调基因,且均参与 PPAR 信号通路。GO 分析表明,LPL 还参与正调控巨噬细胞的泡沫化过程,泡沫细胞主要是巨噬细胞吞噬大量低密度脂蛋白(LDL)来源的脂质而形成,而巨噬细胞泡沫化可以抑制炎症反应^[8]。

核因子- κ B(NF- κ B)在炎症反应中起着关键的促进作用,并且受其他多种因素的调节。Nfkbiz 编码的 I κ B 蛋白是 I κ B 家族成员之一,在炎症反应中起着调节 NF- κ B 的作用^[9]。CCAAT 增强结合蛋白 β (CEBPB),属于与 DNA 启动子或增强子区域结合的转录因子家族。杜云霞等^[10]发现,CEBPB 在胃癌组织中表达上调,而在癌旁组织和正常胃黏膜组织中无表达或弱表达。2010 年 Ng 等^[11]研究发现,CEBPB 可通过激活表达 NF- κ B 的配体促进肿瘤发展。NF- κ B 介导炎症反应,NF- κ B 体系主要涉及机体防御反应、组织损伤和应激、细胞分化和凋亡以及肿瘤生长抑制过程的信息传递。在多数细胞质内,NF- κ B 与抑制蛋白或无活性复合物结合,当信息物质作用于相应受体后,磷酸化抑制蛋白使 NF- κ B 脱落而活化,NF- κ B 进入细胞核影响基因转录。本研究中,CEBPB 基因表达上调,且 GO 分析中其功能主要富集于内质网应激反应、调控 IL-6 的生物合成等过程。其中,内质网应激作为多种应激过程可能的共同通路,通过 UPR(未折叠蛋白)通路与细胞内炎症反应信号转导通路相偶联,广泛参与炎症性疾病的病理过程^[12],而 IL-6 是一种多效性的促炎因子。

ABCC2,即多药耐药相关蛋白 2,是一种膜转运蛋白。白细胞介素-1 β (IL-1 β)、TNF- α 和 IL-6 等炎症因子的过量表达及释放可抑制 ABCC2 启动子的视黄醛反应元件,从而降低 ABCC2 的表达^[13]。本试验中,ABCC2 基因表达下调,说明机体可能正处于大量炎症因子的过量表达和释放过程。

PTGDS 参与花生四烯酸代谢通路,而花生四烯酸代谢产物属于细胞释放的炎性介质。PTGDS 基因表达的上调,说明机体可能正释放大量的炎性介质。

早期生长反应因子-1(EGF1)是一种促炎性核转录因子,被认为是炎症启动的关键因子。EGF1 可调节多种炎性因子表达^[14],如 TNF- α 、IL-2、转化生长因子 β 1(TGF- β 1)、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)等,是早期炎症调节的关键转录因子之一。EGF1 基因的剔除,可明显改善试验性急性胰腺炎,表现为

胰腺组织水肿减轻,胰腺组织和肺组织的炎性细胞浸润减少,炎症减轻^[15]。本试验中,*EGR1* 基因表达上调,说明机体可能处于调节多种炎性因子的表达阶段。

MME,即膜金属肽链内切酶,又称脑啡肽酶(NEP)基因,是体内天然降解 A β 活性的主要肽酶。A β 是淀粉样前体蛋白(APP)的一种降解产物,A β 的积累能引发炎症反应,而且其还能够直接或间接地激活小胶质细胞进而引发炎症反应导致神经退行性病变^[16]。在许多恶性肿瘤中发现,NEP 不表达或表达水平降低,如肾肿瘤、浸润性膀胱癌、低分化的胃癌、小细胞和非小细胞肺癌以及宫颈癌和子宫内膜癌,其中前列腺癌被认为是典型的发病过程中 NEP 表达水平降低的癌症^[17],而长期的炎症可促进肿瘤的发生。本试验中,*MME* 基因表达下调,说明 *MME* 编码的肽酶减少导致 A β 的积累进而可能引发炎症反应。

本研究初步确定,APEC 损伤雏鸡小肠后可以引起炎症相关基因的差异表达,为研究炎症相关基因在 APEC 损伤小肠过程中所起的作用提供了参考,也为进一步研究雏鸡对 APEC 感染的防御反应机制奠定了基础,但炎症相关基因的蛋白表达水平是否有差异还有待进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 张清瑞. 基于 RNA-Seq 的 DHAV-1 感染雏鸭的组织转录组分析 [D]. 武汉:华中农业大学,2013.
Zhang Q R. Research on the transcriptome of DHAV-1 infected ducklings tissue through RNA-Seq [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University,2013.

[2] Castillo J C,Creasy T,Kumari P,et al. Drosophila anti-nematode and antibacterial immune regulators revealed by RNA-Seq [J]. BMC Genomics,2015,16:519.

[3] Szlosarek P W,Grimshaw M J,Wilbanks G D,et al. Aberrant regulation of argininosuccinate synthetase by TNF- α in human epithelial ovarian cancer [J]. Int J Cancer,2007,121(1):6-11.

[4] Uchiyama K,Naito Y,Takagi T,et al. FGF19 protects colonic epithelial cells against hydrogen peroxide [J]. Digedtion,2011,83(3):180-183.

[5] 罗 宁,程忠平. 成肌纤维细胞分化过程中肌动蛋白细胞骨架的形成及其作用 [J]. 医学综述,2013,19(7):1185-1187.
Luo N,Cheng Z P. The formation and function of actin cytoskeleton during the differentiation of myofibroblasts [J]. Medical Recapitulate,2013,19(7):1185-1187.

[6] Chennamsetty I,Claudel T,Kostner K M,et al. FGF19 signaling cascade suppresses *APOA* gene expression [J]. Arterio-

scler Thromb Vasc Biol,2012,32(5):1220-1227.

[7] Lookene A,Beekstead J A,Nilsson S,et al. Apolipoprotein A-V-heparin interactions:implications for plasma lipoprotein metabolism [J]. Biol Chem,2005,280:25383-25387.

[8] 宋 辉,杨 芳. 巨噬细胞泡沫化对炎症反应的影响 [J]. 微循环杂志,2015,25(2):19-21,26.
Song H,Yang F. Effect of macrophage derived foam cell on inflammatory responses [J]. Chinese Journal of Microcirculation,2015,25(2):19-21,26.

[9] 杨逸凡,杜立中,朱紫祥,等. p53 调控 *Nfkbiz* 基因表达的研究 [J]. 中国动物传染病学报,2014,22(3):61-68.
Yang Y F,Du L Z,Zhu Z X,et al. The regulatory role of p53 on expression of *Nfkbiz* gene [J]. Chinese Journal of Animal Infectious Diseases,2014,22(3):61-68.

[10] 杜云霞,张连海,王 晓,等. CCAAT 增强子结合蛋白 β 在胃癌中的表达及其临床意义 [J]. 中华胃肠外科杂志,2013,16(2):179-182.
Du Y X,Zhang L H,Wang X,et al. Expression of CCAAT/enhancer binding protein beta in human gastric carcinoma and its clinical significance [J]. Chinese Journal of Gastrointestinal Surgery,2013,16(2):179-182.

[11] Ng P K,Tsui S K,Lau C P,et al. CCAAT/enhancer binding protein beta is up-regulated in giant cell tumor of bone and regulates RANKL expression [J]. Cell Biochem,2010,110:438-446.

[12] 冯利杰,沈玉先,李 俊. 内质网应激与炎症 [J]. 中国药理学通报,2013,29(6):756-760.
Feng L J,Shen Y X,Li J. Endoplasmic reticulum stress and inflammation [J]. Chinese Pharmacological Bulletin,2013,29(6):756-760.

[13] Denson L A,Auld K L,Schiek D S,et al. Interleukin-1 beta suppresser retinoid transactivation of two hepatic transporter genes involved in bile formation [J]. J Biol Chem,2000,275(12):8835-8843.

[14] Yan S F,Zou Y S,Gao Y,et al. Tissue factor transcription driven by *Egr-1* is a critical mechanism of murine pulmonary fibrin deposition in hypoxia [J]. Proc Natl Acad Sci USA,1998,95(14):8298-8303.

[15] 段佑才,姜 泊,智发朝,等. *Egr-1* 基因剔除对雨蛙素诱导小鼠胰腺炎的影响 [J]. 第四军医大学学报,2005,16(16):1481-1483.
Duan Y C,Jiang B,Zhi F C,et al. Knock out *Egr-1* ameliorates ceerule in induced pancreatitis in mice [J]. J Fourth Mil Med Univ,2005,16(16):1481-1483.

[16] Ho G J,Drego R,Hakimian E,et al. Mechanisms of cell signaling and inflammation in Alzheimer's disease [J]. Current Drug Targets-Inflammation & Allergy,2005,4(2):247-256.

[17] Papandreou C N,Usmani B,Geng Y,et al. Neutral endopeptidase 24.11 loss in metastatic human prostate cancer contributes to androgen-independent progression [J]. Nature Medicine,1998,4(1):50-57.